

Relatório Final de Estágio
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

**ESTUDO DA RELAÇÃO DOS NÍVEIS DE ÁCIDO β -
HIDROXIBUTÍRICO NO LEITE E NO SANGUE EM PARÂMETROS
REPRODUTIVOS DO PÓS-PARTO EM DUAS EXPLORAÇÕES DE
BOVINOS LEITEIROS**

Helena Catarina Marinho Teixeira

Orientador:

Prof. Doutor Paulo Pegado Cortez

Coorientadores:

Eng. Nuno Guedes

Dr. Pedro Meireles

Dra. Carolina Maia

Porto, 2018

Relatório Final de Estágio
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

**ESTUDO DA RELAÇÃO DOS NÍVEIS DE ÁCIDO β -
HIDROXIBUTÍRICO NO LEITE E NO SANGUE EM PARÂMETROS
REPRODUTIVOS DO PÓS-PARTO EM DUAS EXPLORAÇÕES DE
BOVINOS LEITEIROS**

Helena Catarina Marinho Teixeira

Orientador:

Prof. Doutor Paulo Pegado Cortez

Coorientadores:

Eng. Nuno Guedes

Dr. Pedro Meireles

Dra. Carolina Maia

Porto, 2018

RESUMO

O presente relatório foi elaborado no âmbito da unidade curricular “Estágio Curricular” do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária lecionado pelo Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto.

Este estágio decorreu em Portugal em três locais distintos iniciando com o Eng. Nuno Guedes, na empresa DIN®, em seguida nos Serviços Veterinários Associados® e por último na Diessen® – Serviços Veterinários. Durante estas 16 semanas tive oportunidade de melhorar o meu raciocínio clínico e aprofundar os meus conhecimentos teóricos e práticos. Também presenciei diferentes formas de trabalho e prática da medicina de bovinos em diferentes áreas, sobretudo na clínica e reprodução, e em duas regiões distintas do País, o Entre Douro e Minho e o Alentejo.

Aquando da realização deste estágio deparei-me com a realidade de que cada vez mais o sucesso da rentabilidade de uma exploração resulta da implementação de boas práticas de manejo e de gestão e que a maior rentabilidade de uma exploração leiteira está na prevenção de patologias, sobretudo na altura do parto, e na otimização da performance reprodutiva. O que se tem verificado ao longo das últimas décadas é a diminuição da fertilidade devido ao aumento da capacidade de produção de leite das vacas leiteiras. Na generalidade, na ausência de doenças infecciosas, o que exerce mais efeito sobre a performance reprodutiva é a condição nutricional. Assim sendo, decidi realizar para este relatório um estudo direcionado ao diagnóstico do balanço energético negativo que nos indica a condição metabólica e nutricional na qual as vacas se encontram na altura do parto com o objetivo de verificar de que forma o balanço energético negativo pode afetar a fertilidade. Para tal avaliei as taxas de concepção à primeira inseminação artificial, o intervalo entre parto e a primeira inseminação artificial, o intervalo entre parto e concepção, as perdas de gestação e o número de serviços por concepção. Analisei também outros parâmetros que possam estar relacionados direta ou indiretamente com o balanço energético negativo: produção de leite diária, taxas de refugo, lactação em que o animal se encontrava e duração do período seco.

Em geral, este estudo reforça os resultados anteriores de que o aumento das concentrações de ácido beta-hidroxibutírico, devido ao desequilíbrio metabólico, pode estar relacionado ou ter efeito prejudicial em parâmetros reprodutivos e não reprodutivos e que alguns dos fatores de risco para o desequilíbrio metabólico poderão ser melhorados. Desta forma, é possível alertar para o facto de que o manejo no período de transição é cada vez mais importante e pode ter influência na performance no período de reprodução subsequente, e se houver melhoria do manejo na fase de transição e, portanto, melhoria do balanço energético poderemos aumentar a rentabilidade da exploração.

AGRADECIMENTOS

Na chegada a este ponto da minha vida, com a realização de todo este percurso e conclusão do curso de Medicina Veterinária, tenho a agradecer toda a ajuda e, por isso, este espaço é dedicado àqueles que estiveram presentes dando-me apoio incondicional e incentivo para que esta longa caminhada fosse possível:

A todo o corpo docente e não docente do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, pelo apoio, disponibilidade e conhecimento transmitido durante estes 6 anos.

Ao Prof. Doutor Paulo Pegado Cortez por aceitar ser meu orientador, conselhos e atenção dispensada.

Ao coorientador Eng. Nuno Guedes por me aceitar como sua estagiária, pela partilha dos seus bastos conhecimentos e pelo seu tempo dispensado.

Ao coorientador Dr. Pedro Meireles que não só me aceitou como sua estagiária como me deu muito incentivo para o futuro, conselhos, ensinamentos e partilhas infinitas de experiência profissional.

Ao Dr. Luís Pinho, Dr. Carlos Cabral e Dr. Luís Figueiredo pela possibilidade de os acompanhar durante o meu estágio com os Serviços Veterinários Associados®, boa disposição, conhecimentos e possibilidade de participar em todas as intervenções veterinárias.

À coorientadora Dra. Carolina por me aceitar como estagiária na sua equipa e pelo seu contributo na área da estatística para a minha formação.

Ao Dr. Bruno Carneiro e Dr. Miguel Pimental, integrantes na equipa da Diessen®, por todos os conselhos, convivência, amizade e oportunidades de participar em todas as atividades veterinárias.

Aos produtores das explorações e respetivos veterinários (Dr. Pedro Meireles e toda a equipa da Diessen®) pela partilha das bases de dados contendo todas as informações detalhadas referentes ao histórico reprodutivo de cada animal, pela confiança, oportunidade e disponibilidade que permitiu a minha aprendizagem e prática que em muito contribuiu para a minha formação.

À Dra. Andreia Amaral e Dra. Ana Paula Peixoto por contribuírem para o meu percurso académico, realização pessoal e para a minha bagagem de conhecimentos.

Aos meus pais, que sem eles nada seria possível, pelo apoio, compreensão, por me surpreenderem e por todo o esforço que fizeram para que eu pudesse estudar e concluir o curso.

Aos meus irmãos por estarem sempre presentes.

Às minhas amigas de curso (Inês, Sara, Beatriz Costa e Beatriz Faria) e amiga e companheira de casa (Eliana), pelos momentos passados, pelos dias de estudos intensivos mais atenuados, pela partilha de apontamentos, pelas gargalhadas e sobretudo pela amizade.

A todos os meus amigos da faculdade e da banda de música e toda a minha restante família pelo apoio, mensagens de incentivo, carinho e bons momentos.

Ao Pedro, por toda a paciência, companhia, compreensão, companhia, por todo o amor.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

β	Beta
>	Maior
μ	Média
<	Menor
nº	Número
%	Porcentagem
BCS	Score da Condição Corporal
BEN	Balanço Energético Negativo
BHBA	Ácido Beta-Hidroxibutírico
CC	Corpos Cetónicos
CL	Corpo Lúteo
DEL	Dias em Leite
DMI	Ingestão de Matéria Seca
GH	Hormona de Crescimento
GnRH	Hormona libertadora de gonadotrofina
IA	Inseminação Artificial
IGF-I	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina Tipo I
IP-1ªIA	Intervalo entre Parto e Primeira Inseminação Artificial
IP-C	Intervalo entre Parto e Conceção
L	Litros
ME	Morte Embrionária
ml	Mililitros
NEFA	Ácidos Gordos Não Esterificados
PG	Progesterona
PVE	Período Voluntário de Espera
PS	Período Seco
TC	Taxa de Conceção

ÍNDICE GERAL

RESUMO	ii
AGRADECIMENTOS	iii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	v
1. CASUÍSTICA	1
2. BALANÇO ENERGÉTICO NEGATIVO E CETOSE	
2.1. Definição	3
2.2. Etiologia	3
2.3. Sinais Clínicos	6
2.4. Patologia Clínica	6
2.5. Epidemiologia	6
2.6. Consequências do Balanço Energético Negativo e Fatores Predisponentes	7
2.6.1. Consequências na Performance Reprodutiva	7
2.6.2. Efeito no Refugo	11
2.6.3. Efeito do Período Seco no Balanço Energético Negativo	11
2.6.4. Relação da Lactação com o Balanço Energético Negativo	12
2.6.5. Consequência do Balanço Energético Negativo na Produção Leiteira Diária	12
3. ESTUDO	
3.1. Introdução	13
3.2. Materiais e Métodos	14
3.2.1. Critérios de Inclusão	15
3.2.2. Análise Estatística	15
3.3. Resultados e Discussão	16
3.3.1. Intervalo entre Parto e a Primeira Inseminação Artificial	17
3.3.2. Taxa de Conceção à Primeira Inseminação Artificial	18
3.3.3. Intervalo entre Parto e Conceção	19
3.3.4. Percentagem de Morte Embrionária	20
3.3.5. Duração do Período Seco	20
3.3.6. Serviços por Conceção	21
3.3.7. Lactação	21
3.3.8. Produção Leiteira Diária	22
3.3.9. Percentagem de Refugo	23
3.4. Conclusões	24
BIBLIOGRAFIA	25
ANEXOS	
Anexo I – Casuística	28
Anexo II – Análise Estatística	29

1. CASUÍSTICA

Este estágio teve a duração de 16 semanas. Teve início a 2 de outubro de 2017 e, ao longo de 3 semanas, acompanhei o trabalho desenvolvido pelo engenheiro Nuno Guedes responsável pelo acompanhamento nutricional de ruminantes da empresa DIN®. A DIN® (Desenvolvimento e Inovação Nutricional®, SA) é uma empresa, pertencente ao grupo CCPA® (*Conseils et Compétences en Productions Animales*), que está no mercado quer nacional quer internacional cujas áreas de excelência se enquadram na nutrição e saúde animal. Nos dias de trabalho de campo, foram feitas várias visitas a explorações de bovinos leiteiros em que se procedeu à recolha de silagem para avaliação da qualidade das mesmas: composição química, valores nutritivos e degradabilidade. Também foram analisados vários *Unifeeds*: tamanho de partículas; pesagens de matéria seca; verificações de formulações, arrazoamentos e simulações dos mesmos. Em algumas explorações era efetuado um estudo e avaliação ao progresso em termos de produção leiteira, ingestão de matéria seca (DMI), qualidade do leite, performance reprodutiva, avaliação do score da condição corporal (BCS) dos animais e avaliação das fezes dos mesmos. No fim ou durante as visitas reuníamos com os produtores por forma à definição de objetivos, como concretizá-los e estudo de estratégias a aplicar consoante as limitações da mesma. As explorações eram sobretudo da zona de Vila do Conde, Barcelos e Famalicão. Nos dias de trabalho de escritório, o meu tempo foi aproveitado para realizar pesquisa bibliográfica à cerca da nutrição em bovinos para integrar a teoria com a prática do dia-a-dia.

No segundo período do meu estágio, acompanhei os veterinários do SVA® (Serviços Veterinários Associados®), localizados em Fradelos, Vila Nova de Famalicão. Este período teve a duração de seis semanas, a iniciar no dia 23 de outubro de 2017, no qual acompanhei quatro dos seis veterinários que constituem o corpo clínico na realização de serviços em explorações de bovinos leiteiros: gestão e consultoria técnica e económica de explorações de bovinos leiteiros, controlos reprodutivos, cirurgias, clínica e ainda revisão técnica das máquinas e salas de ordenha. Apesar das várias atividades que tive oportunidade de acompanhar, a maioria recaiu sobre os controlos reprodutivos pela palpação transretal na qual tive a oportunidade de recorrer ao ecógrafo para os mesmos. As explorações também eram sobretudo em Entre Douro e Minho.

A partir de 4 de dezembro e durante as sete semanas consecutivas, tive a oportunidade de estagiar com os veterinários que constituem a Diessen® – Serviços Veterinários, localizada em Évora. As explorações a que era prestado serviço localizavam-se sobretudo em Évora, Elvas, Ferreira do Alentejo, Coruche, Montemor-o-Novo, Portel e Arraiolos. Neste terceiro período do meu estágio acompanhei sobretudo controlos reprodutivos em explorações de bovinos leiteiros. Também tive oportunidade de acompanhar controlos reprodutivos em vacadas de carne, bem como saneamento nas mesmas. Para além da parte reprodutiva, também acompanhei serviços de clínica e cirurgia embora houvessem poucas chamadas de emergência já que os clientes da

Diessen® tinham protocolos para a realização de terapias, fornecidos e elaborados pela equipa veterinária, e assim as emergências eram praticamente apenas em situações em que havia necessidade de intervenção cirúrgica para o qual os clientes não tinham formação.

No anexo I encontram-se os diagramas da distribuição das tarefas desempenhadas nestes 3 locais distintos de estágio.

2. BALANÇO ENERGÉTICO NEGATIVO E CETOSE

2.1. Definição

A cetose é uma condição caracterizada por um aumento anormal das concentrações de corpos cetónicos (CC) em circulação e ocorre quando as vacas se encontram em balanço energético negativo (BEN) e, portanto, consideramos que a cetose é uma doença associada ao BEN (Divers & Peek, 2008). A cetose torna-se numa doença apenas quando a absorção e a produção de CC (acetona, ácido acetoacético e ácido beta-hidroxibutírico) excedem o uso dos mesmo pelo animal como uma fonte energética, levando a um aumento de ácidos gordos não esterificados (NEFAs) e de CC circulantes, e diminuição da glicose sanguínea (Fleming, 2009).

Nem todas as vacas que se encontram em BEN desenvolvem cetose devido aos mecanismos de adaptação, assim, quando a vaca apresenta cetose é devido não só ao BEN mas também à não adaptação a esse mecanismo (Herdt, 2000). Assim, o aumento da circulação do ácido beta-hidroxibutírico (BHBA) e dos NEFAs e o grau de diminuição da glicose para além de nos indicar que a vaca se encontra em cetose também nos indica a severidade e duração do BEN.

Nas últimas semanas de gestação a diminuição da capacidade ruminal bem como fatores hormonais podem estimular o aumento da lipólise e causar a diminuição da capacidade da DMI (Divers & Peek, 2008). A cetose pode ser categorizada em tipo I ou tipo II baseada na glicose sanguínea e na insulina sanguínea e envolvem uma patologia fisiologia semelhante: lipólise, libertação excessiva de NEFAs, inadequado metabolismo hepático dos NEFAs que estão aumentados (oxidação incompleta que resulta na produção de CC), aumento do armazenamento de ácidos gordos como triglicerídeos no fígado e, em algumas vacas, aumento do armazenamento das lipoproteínas de baixa densidade (VLDLs) devido à diminuição da secreção destas (Divers & Peek, 2008; Fleming, 2009; Ambrose, 2015).

A cetose pode ainda ser classificada como clínica ou subclínica com base na presença ou não de sinais clínicos e pelos níveis de CC no sangue, urina e/ou leite.

2.2. Etiologia

As vacas leiteiras têm sido geneticamente selecionadas para uma maior produção de leite o que tem resultado num rápido aumento na produção ainda no início da lactação (Fleming, 2009). A elevada produção de leite excede a capacidade de o animal ingerir alimento suficiente já que o pico de produção geralmente ocorre por voltas das 4 a 5 semanas pós-parto, mas a DMI vai aumentando gradualmente tendo o pico apenas por volta das 8 semanas pós-parto e, assim, o que ingere não iguala às necessidades energéticas experimentando assim um BEN e cetose (O'Connor, 2007; Figura 4). Para compensar o BEN, a vaca mobiliza gordura e proteínas das reservas corporais na forma de triglicerídeos e aminoácidos para a gliconeogénese (Fleming,

2009). Os CC são normalmente produzidos pela parede ruminal, fígado e glândula mamária, apesar do fígado ser a maior fonte de produção durante a cetose (Fleming, 2009).

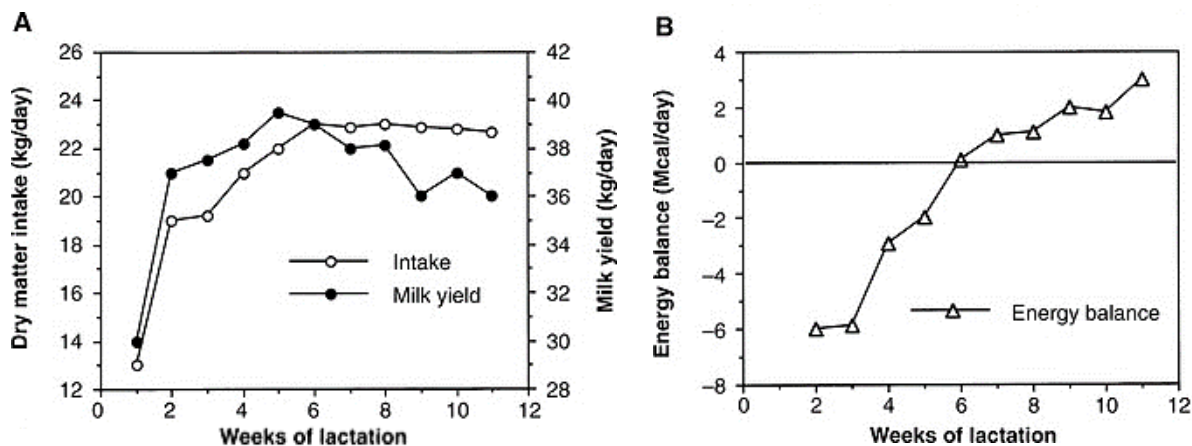


Figura 4 - Média da ingestão de matéria seca (dry matter intake) e da produção média diária (milk yield) (A) e do balanço energético diário (energy balance) (B) para vacas leiteiras (Lucy *et al.*, 1992).

A cetose tipo I é a cetose primária clássica ou espontânea e resulta do BEN durante o período de transição (3 semanas pré-parto a 3 semanas pós-parto), em que há uma redução da glicose sanguínea e hepática (diminuição do glicogénio) e aumento da mobilização de gorduras que culminam numa elevação de CC e acumulação dos mesmos (Fleming, 2009). A cetose de tipo I ocorre entre 3 e 6 semanas pós-parto porque as vacas estão expostas a uma maior demanda de energia para a produção de leite neste momento (Oetzel, 2007). Às vezes essas vacas não conseguem acompanhar a demanda de energia simplesmente devido a alguma deficiência na gestão nutricional (Oetzel, 2007). As vacas normalmente são capazes de produzir glicose a partir de precursores principalmente propionato do rúmen e aminoácidos do intestino delgado (Figura 5). No entanto, na cetose tipo I o fator limitante é o fornecimento de precursores de glicose. Neste tipo de cetose as concentrações de CC no sangue encontram-se muito altas e as concentrações de glicose no sangue são muito baixas (Oetzel, 2007; Figura 6).

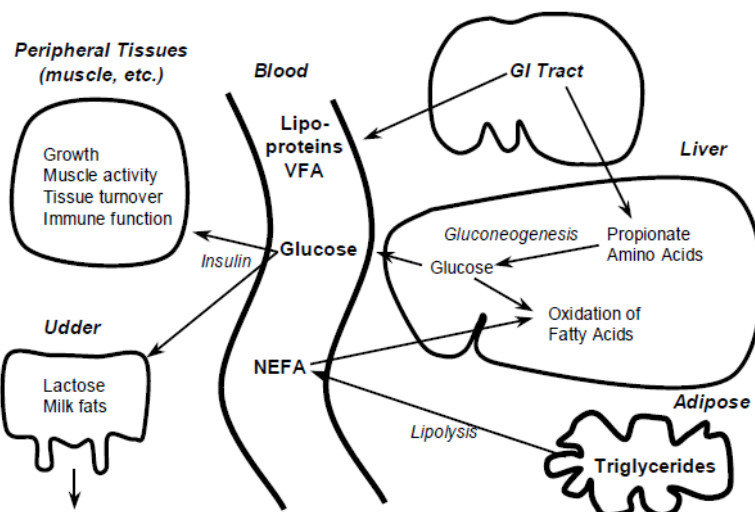


Figura 5 - Esquema do metabolismo normal da glicose numa vaca leiteira (Oetzel, 2007). NEFA= Non Esterified Fatty Acids; VFA= Visceral Fat Area.

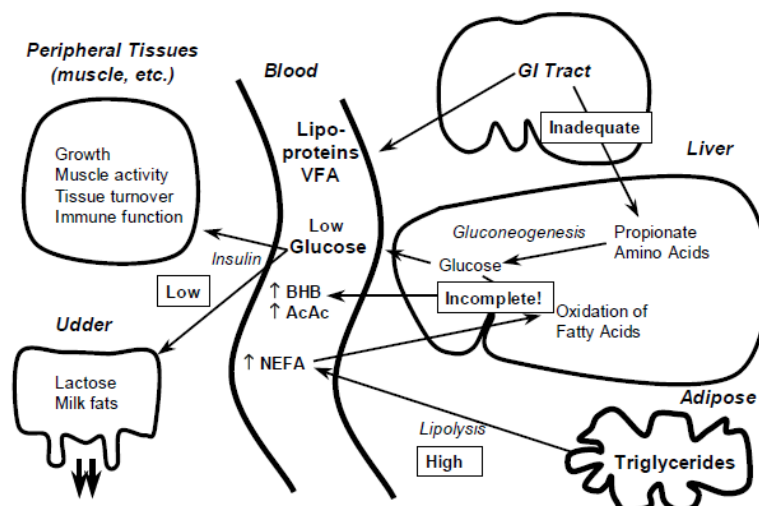


Figura 6 - Esquema do metabolismo da glicose e formação de corpos cetônicos numa vaca com cetose tipo I (Oetzel, 2007). NEFA= *Non Esterified Fatty Acids*; VFA= *Visceral Fat Area*; BHB= β -hydroxybutyric Acid; AcAc= *acetoacetic acid*.

A cetose Tipo II, designada como "Síndrome da Vaca Gorda" ou "Síndrome do Fígado Gordo", envolve uma alta concentração de insulina sanguínea e uma hiperglicemia transitórias secundárias ao excessivo BCS e infiltração de gordura no fígado (Fleming, 2009). Inclui também as vacas que desenvolvem o BEN e começam a mobilizar a gordura corporal antes ou durante o parto. As vacas com BCS excessivo estão em maior risco para este problema porque são propensas à diminuição da DMI na altura do parto, mas as vacas mais magras também estão em risco se o manejo nutricional, durante o período pré parto, for fraco (Oetzel, 2007; Weber *et al.*, 2015). A lesão fundamental da cetose tipo II é o fígado gordo (Figura 7). A infiltração hepática da gordura é completa no momento do parto apesar de se manifestar clinicamente apenas após o parto, o que aumenta consideravelmente o risco de cetose de uma vaca quando inicia a lactação. As vacas afetadas desenvolvem cetose na semana 1- 2 pós-parto (Oetzel, 2007).

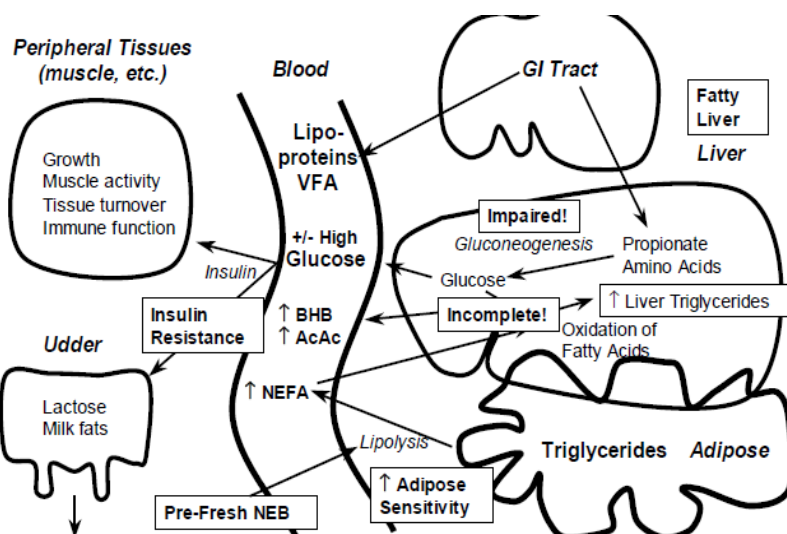


Figura 7 - Esquema do metabolismo da glicose e formação de corpos cetônicos em vacas com cetose tipo II (Oetzel, 2007). NEFA= *Non Esterified Fatty Acids*; VFA= *Visceral Fat Area*; BHB= β -hydroxybutyric Acid; AcAc= *acetoacetic acid*.

É ainda de notar que qualquer doença que ocorra no início da lactação que reduza a DMI pode causar uma cetose secundária devido ao aumento da mobilização de gorduras e de produção de CC (Fleming, 2009).

2.3. Sinais Clínicos

Os sinais clínicos da cetose e do BEN podem ser vagos e não específicos. A cetose clínica é comumente vista como uma perda gradual de apetite e diminuição da produção de leite durante vários dias (Fleming, 2009). Como a DMI diminui, a perda de peso é rápida e há queda na produção de leite e, portanto, nas vacas leiteiras no início da lactação, a extensão do BEN é aparente a partir do grau de perda do BCS (Butler, 2013). Sinais físicos encontrados incluem: sinais vitais normais, fezes secas e duras, depressão moderada e, às vezes, relutância na locomoção (Fleming, 2009). Também a motilidade ruminal está diminuída se o animal mantiver a anorexia durante vários dias. Deslocamento do abomaso, metrite, mastite e peritonite (sobretudo reticuloperitonite traumática) são doenças que podem levar a cetose secundária ou surgir em consequência da cetose (Fleming, 2009). Cetose também leva à depressão da resposta imunitária o que torna o animais mais vulnerável a infecções (Moyes *et al.*, 2009).

2.4. Patologia Clínica

Os CC podem ser detetados no sangue, leite e urina. No entanto, a medição da concentração de BHBA plasmático foi considerado o teste *gold standard* para cetose (Oetzel, 2004; Radostits, 2006; Oetzel, 2007). Está descrito que vacas normais têm concentrações plasmáticas de BHBA inferiores 1.0 mmol/L, vacas com cetose clínica têm concentrações, na maioria dos casos, superiores a 2.5 mmol/L (Oetzel, 2004; Radostits, 2006). As vacas com cetose subclínica, que são animais clinicamente normais, têm concentrações superiores a 1 – 1.4 mmol/L (Oetzel, 2004; Radostits, 2006).

2.5. Epidemiologia

A morbidade da cetose clínica é muito variável e difícil de medir. O manejo e a nutrição são dois fatores que influenciam e que variam de exploração para exploração. Num estudo em 5 países da Europa foi demonstrada uma prevalência média de cetose de 41%, com distribuição entre os 31% e os 46% (Berge & Vertenten, 2014). Suthar *et al.* (2013) demonstraram uma prevalência de 21.8% (variando entre 12.1% e 36.6%) para cetose subclínica em 10 países da Europa. A incidência reportada (número de casos que ocorre num ano) varia entre 1.87% a 13% para cetose clínica e 26% a 56% para cetose subclínica (Fleming, 2009). Num estudo feito em explorações dos Estados Unidos por McArt *et al.* (2012) verificou-se um pico de prevalência e incidência de cetose subclínica aos 5 DEL de, respetivamente, 28.9% e 22.3%.

A maioria dos casos ocorre nas primeiras 6 semanas após o parto com um pico de incidência na semana 1-3 após o parto (Oetzel, 2004). A incidência de cetose aumenta com a o nº de partos e, segundo Fleming (2009), apresenta um pico na 5ª e 6ª lactação, enquanto que Divers & Peek (2008) defende que a cetose é mais comum na 2ª, 3ª e 4ª lactação. Em algumas explorações, a cetose subclínica poderá apresentar uma prevalência em vacas leiteiras no início da lactação de 30% a 50% (Divers & Peek, 2008).

2.6. Consequências do Balanço Energético Negativo e Fatores Predisponentes

Tem havido alguma discussão sobre a associação entre a alta produção e o BEN na redução da fertilidade em vacas leiteiras. No entanto, pouca ou nenhuma associação foi encontrada entre a produção de leite no início da lactação e o risco de não ovulação, prenhez ou perda de prenhez em vacas de alta produção (Santos *et al.*, 2009). O que nos preocupa de facto é a incidência de patologias pós-parto, sobretudo as metabólicas e as que afetam o aparelho reprodutivo e alteram a performance reprodutiva. Santos *et al.* (2010) avaliaram 5719 vacas leiteiras diariamente no pós-parto para controlo de patologias pós-parto e, apesar das patologias diagnosticadas não terem demonstrado influencia na produção de leite, as vacas afetadas apresentaram atraso na ciclicidade, menor percentagem (%) de gestação no final do período voluntário de espera (PVE), e um risco aumentado de morte embrionária (ME). Além disso, as vacas que tiveram 2 ou mais patologias também tiveram a taxa concepção (TC) à primeira inseminação artificial (IA) pós-parto mais baixo e maior taxa de ME que as vacas que foram apenas afetadas por uma patologia (Santos *et al.*, 2010). Este estudo indica-nos que a melhoria da saúde no pós-parto pela prevenção de doenças que incidem nesta altura tem um grande potencial de melhorar a performance reprodutiva pelo aumento de gestações por IA e diminuição das taxas de ME, ou seja, vacas que não apresentam problemas no período de transição tem mais probabilidade de ter uma ótima performance reprodutiva na lactação (Santos *et al.*, 2010).

2.6.1. Consequências na Performance Reprodutiva

As vacas que atravessam uma normal involução uterina geralmente ovulam pela primeira vez cerca de 13 a 15 dias pós-parto (Hillman & Rolbert, 2008). No entanto, esta ovulação geralmente não resulta em sinais detetáveis de cio, mas causa um folículo, aumento da tonicidade uterina e aumento e secreção de muco e este pode ser uma mistura de matéria purulento, lóquio sanguíneo ou ser limpo e claro (Hillman & Rolbert, 2008). A segunda ovulação geralmente ocorre 21 dias depois, por volta dos 30 – 35 dias pós-parto e resulta em mais sinais detetáveis de cio, mas, mesmo assim, cerca de 50% das vacas não são detetadas (Hillman & Rolbert, 2008). A seguir à segunda ovulação pós-parto, as vacas leiteiras retomam aos ciclos

regulares de 20 - 23 dias, apesar de uma pequena percentagem poder ter ciclos, mesmo assim regulares, mas mais pequenos ou mais longos que 20 - 21 dias (Hillman & Rolbert, 2008).

A nutrição, mais especificamente o equilíbrio energético, tem um impacto no início dos ciclos éstricos no pós-parto pelo que a deficiente nutrição, o pobre BCS e o BEN tem efeitos nefastos na performance reprodutiva pós-parto (O'Connor, 2007). Ou seja, durante a lactação, o momento da primeira ovulação, antecipada ou atrasada, está diretamente relacionado com BEN e a DMI é o principal determinante do BEN (LeBlanc, 2010; Butler, 2013).

O BEN no início da lactação parece deprimir a função luteínica reduzindo os níveis de progesterona (PG) e assim diminuição da fertilidade (Hillman & Gilbert, 2008). Vacas com BEN severos não ciclam e têm CL persistentes ou, têm ovários inativos ou, ciclam, mas falham na expressão de cio (Hillman & Gilbert, 2008). Para além de atuar ao nível da produção de PG, o BEN parece aumentar a sensibilidade hipotalâmica ao estradiol, resultando na diminuição da libertação da hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH), e consequentemente na libertação da hormona luteinizante (LH) e da hormona folículo-estimulante (FSH), e, assim, os folículos dominantes das vacas afetadas regredem antes de atingirem o tamanho ovulatório ou de alcançarem a produção de estradiol necessária bem como o seu crescimento e desenvolvimento é retardado (Spain *et al.*, 2007; Hillman & Gilbert, 2008).

Por outro lado, umas das consequências do BEN grave na fertilidade é através da redução dos níveis plasmáticos do fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-I) (Butler, 2003). A insulina e IGF-I, também são necessários para o crescimento folicular e ovulação normais e as vacas em BEN têm menores concentrações sanguíneas de insulina e de IGF-I pelo que ocorrem os seguintes mecanismos:

- Como há menos IGF-I há uma redução do feedback negativo pelo IGF-I sobre a hormona de crescimento (GH), aumentando as concentrações de GH (Ambrose, 2015). Por sua vez, o GH estimula a gliconeogénese hepática e promove a lipólise, havendo mobilização de tecido adiposo, resultado numa grande produção de NEFAs. Os NEFAs e a GH têm ação contrária à insulina pelo que irão criar uma insulinoresistência no pós-parto, que levará à não utilização da glicose por tecidos que não a glândula mamária para que esta tenha muita glicose para a produção de leite (Ambrose, 2015).
- Por outro lado, o IGF-I amplifica os efeitos da LH no ovário, o efeito desta mais uma vez estará reduzido porque a diminuição de IGF-I faz com que haja redução da eficácia de LH nas vacas com BEN. Consequentemente, os folículos nas vacas com IGF-I extremamente baixo não se desenvolvem normalmente e a ovulação está atrasada porque a LH é menos ativa (Butler, 2003; Spain *et al.*, 2007; Figura 8). Como podemos observar na figura 9, as vacas que tiveram a primeira ovulação antes dos 40 dias após o parto apresentaram as maiores concentrações plasmáticas de IGF-I (Lucy *et al.*, 1992).

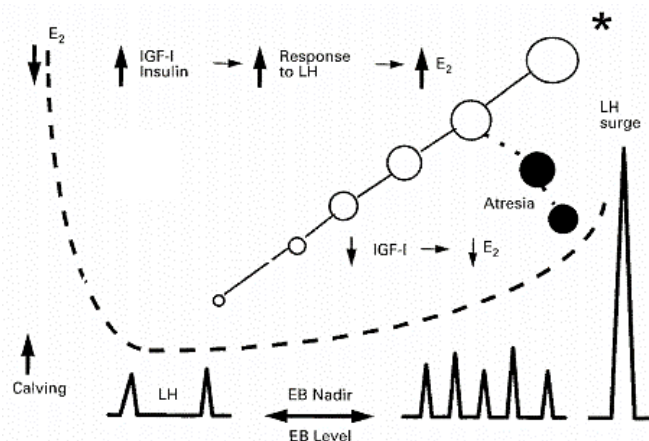


Figura 8 - Esquema representativo do modelo de desenvolvimento folicular (círculos) em relação às mudanças metabólicas e hormonas reprodutivas, e balanço energético (EB) durante a primeira onda folicular pós-parto. Na primeira onda folicular o folículo pode ovular (*) ou sofrer atresia (círculos escuros). A frequência do pulso de LH é modulado pelo nadir do EB e, em menos extensão, pelo nível de EB. As setas mais largas representam o aumento do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-I) e insulina que levam à melhoria da resposta pela hormona luteinizante (LH) e grande aumento da produção de estradiol (E2) pelo folículo dominante (Butler, 2003).

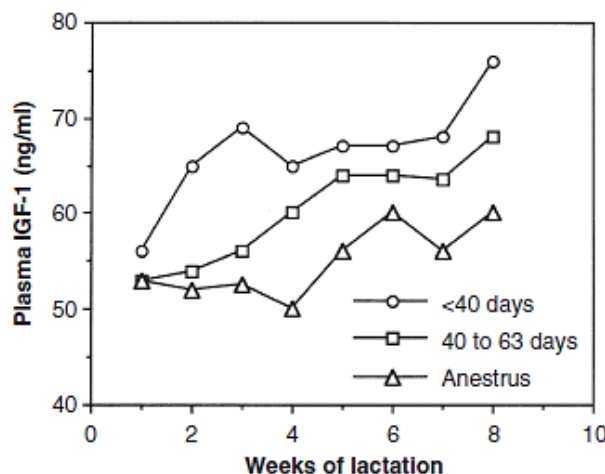


Figura 9 - Concentração da hormona de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-I) em vacas Holstein com diferentes intervalos para a primeira ovulação. Os intervalos para a ovulação foram menores que 40 dias, 40 a 63 dias ou maiores que 63 dias (Lucy *et al.*, 1992).

Pode, também, ser criada uma associação indireta entre cetose e eficiência reprodutiva através da mastite clínica devido ao estado inflamatório sistêmico. As vacas que tiveram cetose demonstraram ter o dobro do risco de desenvolver mastite e as vacas que sofreram um caso de mastite clínica dentro de 30 dias após a IA foram 16% menos propensas a ficarem gestantes na primeira IA pós-parto (Moyes *et al.*, 2009; Cargile & Tracy, 2015). As vacas que tiveram mastite subclínica ou clínica antes da primeira IA pós-parto também demonstram intervalo entre parto e primeira IA (IP-1ªIA) aumentados, maior intervalo entre parto e concepção (IP-C) e diminuição da TC à primeira IA pós-parto (Cargile & Tracy, 2015). Esse efeito também pode ser explicado pelo facto de as prostaglandinas pró-inflamatórias em prejudicar o CL, incapacitando-o da produção adequada de PG para manter o início da prenhez (Cargile & Tracy, 2015). Por outro lado, a

cetose provoca uma supressão da resposta imunitária que permite o desenvolvimento facilitado às mastites.

Perante o descrito anteriormente podemos concluir que:

- O intervalo entre o parto e a primeira ovulação é controlado principalmente pelo balanço energético e um dos fatores mais importantes que determinam quando ocorrerá a ovulação é a DMI no pós-parto;
- A forte relação do BEN com o anestro pós-parto prende-se com o facto do BEN levar à diminuição da frequência dos pulsos de LH que juntamente com as baixas concentrações de insulina, glicose, e IGF-I e limitam a produção de estradiol pelo folículo dominante que é essencial para o estímulo do pico de LH, levando assim a atrasos na ovulação (Butler, 2013);
- Vacas em BEN tem alta probabilidade de desenvolver anestro e infertilidade que pode surgir devido a ovários anormais, atraso ao início da ciclicidade ou como endometrite e resulta num aumento do IP-C e reduz a TC à primeira IA (Radostits, 2006);
- As vacas leiteiras que no pós-parto tem o maior aumento na DMI são as que mais provavelmente equilibram o BEN mais rapidamente e assim terão um menor intervalo entre parto e a primeira ovulação como demonstrado na figura 10 (Lucy *et al.*, 1992).

Pela análise à figura 10, podemos ainda verificar que as vacas com intervalo entre o parto e primeira ovulação superior a 42 dias foram as que apresentaram menor DMI. Com base nesses resultados podemos dizer que devemos apostar em dietas de alta qualidade e palatáveis no pós-parto imediato para que a DMI seja otimizada e assim o BEN severo prevenido, o que resulta não só na maximização da produção de leite, mas também em melhor TC na primeira IA pós-parto porque também está diminuído o intervalo entre parto e primeira ovulação o que permite ter mais ciclos ovulatórios durante o PVE. Assim, as concentrações de BHBA podem ser um indicador útil não só da condição metabólica do animal, mas também da previsão do que poderá ser o desempenho reprodutivo dessa vaca após o PVE.

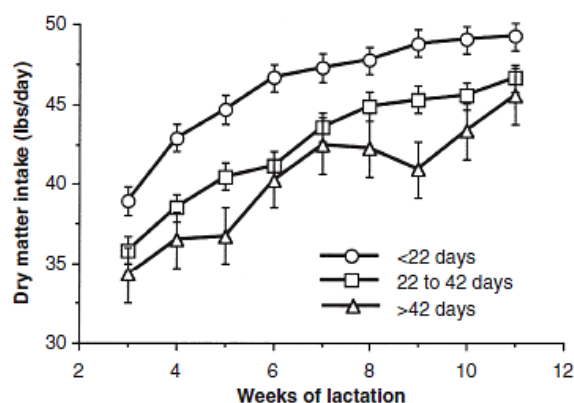


Figura 10 - Média da ingestão de matéria seca (dry matter intake) por vacas Holstein com diferentes intervalos à primeira ovulação. Os intervalos à primeira ovulação foram menores que 22 dias, 22 a 42 dias ou maiores que 42 dias (Lucy *et al.*, 1992).

2.6.2. Efeito no Refugo

Um estudo no Reino Unido sugere que a taxa global de refugo permanece relativamente constante em cerca de 20-24% anualmente (Orpin & Esslemont, 2010). As taxas de refugo, sobretudo nos primeiros meses pós-parto dão nos uma ideia sobre o manejo na fase de transição e no parto. É desejável que as vacas fiquem o máximo de tempo possível na exploração pois isso significa que dilui mais os custos da sua criação e há mais economização nos custos de substituição (Orpin & Esslemont, 2010). Podemos classificar o refugo como:

- Refugo involuntário: estes animais são refugados devido a morte, doença ou fraco desempenho reprodutivo, pelo que os 3 motivos mais comum são a infertilidade, mamite e claudicação (Orpin & Esslemont, 2010);
- Refugo voluntário: estes animais são os que o produtor escolhe refugar por várias razões, entre as quais, baixa produção de leite, má conformação, idade avançada, motivos de gestão e de reposição (Orpin & Esslemont, 2010).

O ideal seria que o produtor minimizasse ao máximo o refugo involuntário e para tal é necessário a melhoria da nutrição e do manejo e o aconselhamento veterinário correto é a base para tal.

A cetose e o BEN como predispõe a animal ao desenvolvimento de outras patologias, tais como, deslocamento de abomaso, metrite e claudicação e também reduz a produção de leite e o desempenho reprodutivo, faz com que aumente o risco de abate prematuro em vacas afetadas (Walsh *et al.*, 2007; LeBlanc, 2010; Ospina *et al.*, 2010; Seifi *et al.*, 2011; Suthar *et al.*, 2013; Berge & Vertenten, 2014).

Por outro lado, o BEN resulta na perda de BCS nas vacas leiteiras no início da lactação e a maior perda de BCS (> .5 pontuação em 30 DEL) demonstrou que atrasa o momento da primeira ovulação (Butler, 2013). Entre as vacas que adiaram a ovulação até após 50 dias pós-parto, a taxa de prenhez foi reduzida e as vacas que permaneceram abertas após 225 dias tiveram mais probabilidade de serem refugadas (Butler, 2013).

2.6.3. Efeito do Período Seco no Balanço Energético Negativo

A gestão do período seco (PS) pelos produtores geralmente é organizada por um período de 6 a 8 semanas antes da data prevista de parto para dar à vaca um tempo de repouso após a lactação e preparação para o próximo parto e lactação. É sabido que a duração do PS influencia a produção e composição do leite, o equilíbrio energético e a saúde na lactação consecutiva (Van Knegsel *et al.*, 2014). Um PS reduzido (isto é, inferior a 60 dias) ou omitido (sem PS) melhora o balanço energético no início da lactação em comparação com um PS convencional de 60 dias (Van Knegsel *et al.*, 2014; Vanholder *et al.*, 2015). Além disso, a incidência de cetose tende a ser menor nas vacas com um PS diminuído ou omitido em comparação com vacas com

PS convencional (Van Knegsel *et al.*, 2014; Weber *et al.*, 2015; Van Hoeij *et al.*, 2017). As concentrações pós-parto de metabolitos plasmáticos diferem entre as vacas com diferentes durações de PS: as vacas com PS omitido apresentam concentrações plasmáticas mais baixas de BHBA e de NEFAs e maiores concentrações plasmáticas de glicose, insulina e IGF-I e maior DMI do que as vacas com PS convencional ou um PS reduzido (Van Knegsel *et al.*, 2014; Weber *et al.*, 2015; Van Hoeij *et al.*, 2017;). O facto de as concentrações de insulina serem mais altas nos animais que não tiveram PS provavelmente resultou na maior concentração de IGF-I e num melhor equilíbrio energético (Van Hoeij *et al.*, 2017). Por outro lado, verifica-se que os animais que experimentam PS têm geralmente maiores produções de leite que os animais que não tem PS o que provavelmente está relacionado com a uma maior renovação das células mamárias durante o PS (Van Hoeij *et al.*, 2017).

Em conclusão, o facto de não haver PS reduziu a produção de leite, mas melhorou o balanço energético e o estado metabólico geral das vacas no início da lactação em comparação com as vacas com PS, portanto a duração do PS influencia o BEN e por isso as concentrações de BHBA plasmáticas e no leite.

2.6.4. Relação da Lactação com o Balanço Energético Negativo

Em alguns estudos nenhum efeito do número (n°) de partos foi observado para a concentração plasmática de IGF-1 e BHBA, mas a concentração plasmática de insulina foi maior e a concentração plasmática de NEFAs foi menor em vacas multíparas do que em vacas primíparas (Meikle *et al.*, 2004). No entanto, outros autores verificaram que um maior n° de partos foi associado a um maior risco de os animais desenvolverem cetose (Seifi *et al.*, 2011; Berge & Vertenten, 2014; Vanholder *et al.*, 2015).

2.6.5. Consequência do Balanço Energético Negativo na Produção Leiteira Diária

Vacas em BEN experimentam diminuição da produção e podem mesmo reduzir até 4 litros (L) de leite diários sobretudo se se tratar de cetose subclínica. Demonstrou-se que vacas com concentrações plasmáticas de BHBA ≥ 1.6 mmol/L podem produzir menos 1.8L de leite por dia, vacas com BHBA ≥ 1.8 mmol/L menos 3L leite por dia e vacas com BHBA ≥ 2.0 mmol/L podem chegar a produzir menos 4L de leite por dia (Duffield *et al.*, 2009). Importa assim realçar que para além das perdas a nível da performance reprodutiva descritas anteriormente, o impacto da cetose, sobretudo a subclínica, pode significar elevadas perdas diárias para a exploração economicamente. Assim sendo, a prevenção das perdas por cetose poderá significar benefícios económicos se detetarmos e tratarmos as vacas que tem concentrações de BHBA no sangue ≥ 1.2 mmol/L já que esta análise custa em média apenas 1€ por animal e as doenças por consequência da cetose subclínica poderão custar muito mais.

3. ESTUDO

3.1. Introdução

A cetose, subclínica ou clínica, é uma condição metabólica comum na vaca leiteira moderna de alta produção e tem sido associada a muitas doenças de vacas pós-parto. O período de transição, definido como 3 semanas antes até 3 semanas após o parto, é um período crítico para uma vaca leiteira já que esta precisa de ajustar o seu metabolismo para suprimir as suas necessidades e ainda produzir leite. O desequilíbrio entre os requisitos de energia para a produção de leite e a ingestão de energia através da alimentação causa o BEN, o que resulta em condições metabólicas, como a cetose (Herdt, 2000; LeBlanc, 2010). Vacas em cetose subclínica apresentaram 1.5, 9.5 e 5.0 vezes mais probabilidade de desenvolver metrite, cetose clínica e deslocamento de abomaso e sabe-se que estas patologias causam a maioria das perdas financeiras nas explorações por custos de tratamento, diminuição da produção de leite e diminuição da performance reprodutiva dos animais (Suthar *et al.*, 2013).

Cerca de 75% das patologias ocorrem no primeiro mês pós-parto, sendo que 50% das vacas leiteiras desenvolvem doenças metabólicas ou infecciosas imediatamente antes ou após o parto e as relações entre cetose e doenças de vacas no pós-parto imediato foram descritas bem como a sua relação com o anestro pós-parto (Berge & Vertenten, 2014; LeBlanc, 2010).

Basicamente, todas as vacas leiteiras após o parto experimentam um período de insulinoresistência, diminuição da DMI, BEN, lipólise, perda de BCS, redução da reposta imunitária durante 1-2 semanas pré-parto até 2-3 semanas pós-parto e contaminação bacteriana uterina durante 2-3 semanas pós-parto (LeBlanc, 2010). Em relação ao anestro pós-parto provocado pelo BEN, vacas com concentrações no leite de BHBA > .10 mmol/L na primeira semana de lactação foram 1.5 vezes mais predispostas ao anestro às 9 semanas pós-parto do que vacas com BHBA < .10 mmol/L (Walsh *et al.*, 2006). Vacas que experimentaram cetose nas primeiras duas semanas pós-parto tiveram uma redução da TC à primeira IA e, além disso, apresentaram baixa TC até aos 140 DEL (Walsh *et al.*, 2007). Walsh *et al.* (2007) demonstrou um IP-C de 108 dias para os animais que não tiveram cetose, 124 dias para os animais que tiveram cetose nas duas primeiras semanas pós-parto e 130 dias para as vacas que tiveram cetose subclínica.

Muitas vacas que se encontram em BEN no início da lactação e que não apresentam sinais clínicos podem estar em cetose subclínica e, portanto, apresentam uma diminuição da produção de leite e redução da fertilidade (Radostits, 2006). Nestes casos em que os animais se encontram em cetose subclínica, o diagnóstico clínico poderá ser ineficaz se não for feita uma quantificação aos CC. Num estudo mesmo usando a quantificação de CC na urina 5-12 dias pós-parto, verificou-se que o diagnóstico foi consideravelmente mais eficiente (15.6% detetado) do que o diagnóstico feito pelo produtor (apenas 4.35% detetados) (Nir, 2003).

O impacto da cetose na performance reprodutiva é maior do que o que os produtores compreendem ou se apercebem e, portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar de que forma o BEN podem influenciar a performance reprodutiva medindo indicadores tais como: IP-1ªIA, TC à primeira IA, IP-C, nº serviços por concepção e taxas de ME. Também foi avaliada a taxa de refugo das vacas com leituras de BHBA plasmáticas e a produção de leite diária das vacas com leituras de BHBA no leite e de que forma a lactação em que o animal se encontra e a duração do PS a que foi submetido poderá influenciar as concentrações de BHBA, no leite e no sangue, e assim o BEN. Este estudo permite fazer uma breve descrição do que se passa a nível nacional e ainda revisão da importância do balanço energético das vacas leiteiras sobretudo na performance reprodutiva já que a área da reprodução poderá ser determinante no retorno e sucesso económico de uma exploração.

3.2. Materiais e Métodos

Para este estudo foram utilizadas duas explorações identificadas a seguir como A e B. A exploração A e B encontravam-se informatizadas e faziam 2 e 3 ordenhas por dia respetivamente. Em 2017 tiveram médias diárias de produção por vaca lactante de 33.45L (exploração A) e de 31L (exploração B) e uma média anual de 11 203 litros (exploração A) e de 9000 (exploração B) por vaca aos 305 dias. Após o parto os animais encontravam-se estabulados em sistema de *freestall*. Os diagnósticos de gestação, em ambas, eram realizados por veterinários externos contratados semanalmente e as IAs eram efetuadas por técnicos internos. Em ambas as explorações, o primeiro controlo veterinário de gestação era efetuado aos 29-37 dias, o segundo controlo aos 60-67 dias e o terceiro aos 180-195 dias de gestação. Em ambas as explorações não era efetuado um manejo nutricional diferente para as vacas que se encontravam no período de transição isto é, as vacas pré parto eram alimentadas com a dieta das vacas secas e às vacas no pós parto era-lhes fornecida dieta das vacas em lactação.

Para cada exploração foi-me disponibilizado, pelos respetivos veterinários, uma base de dados onde estava registado para cada animal: data de parto, nº de lactação, data de todas as IAs desse mesmo animal no período estudado, diagnóstico de gestação, data em que se detetou a ME, data de refugo (apenas para a exploração B), data de secagem, concentração de BHBA no leite (para a exploração A), concentração BHBA no sangue (para a exploração B), média de produção diária (apenas para a exploração A), data das colheitas para leitura de BHBA entre outros dados não utilizados no estudo. A partir das bases de dados disponibilizadas procedi à realização de uma nova folha de Excel® e calculei, para cada nível de BHBA: TC à primeira IA pós-parto, IP-1ªIA, taxa de refugo (exploração B), % de ME, nº serviços por concepção, IP-C, duração média do PS por nível de BHBA, DEL à leitura do BHBA, produção de leite média diária (exploração A) e nº lactação média por nível de BHBA.

Para a exploração A, foram definidos 2 níveis quanto à ocorrência de cetose (clínica ou subclínica) de acordo com a concentração de BHBA no leite, em que BHBA < .10 mmol/L representou cetose negativa e BHBA ≥ .10 mmol/L representou cetose positiva (Oetzel, 2004). Em relação às concentrações plasmáticas de BHBA, determinadas na exploração B, foram também definidos 2 níveis para cetose, em que BHBA <1.2 mmol/L foi considerado cetose negativa e BHBA ≥1.2 mmol/L cetose positiva (Oetzel, 2007; Seifi *et al.*, 2011; Suthar *et al.*, 2013).

3.2.1. Critérios de inclusão

A exploração A, localizada no Centro de Portugal Continental, tinha 538 vacas em lactação (média do ano 2017) e nesta foram utilizadas as leituras de BHBA no leite. Apenas foram selecionados os animais com a primeira IA em 2017 e que tinham leitura de BHBA no leite até 35 DEL. A exploração B tinha 390 em lactação (média do ano 2017), localiza-se a Sul de Portugal e nesta foram utilizadas as leituras de BHBA plasmáticas. Desta exploração foram selecionados todos os animais cujos partos ocorreram de março de 2016 a dezembro de 2017, inclusive, e que tinham leitura plasmática de BHBA e pelo menos, a data de secagem ou uma IA pós-parto ou data de refugo.

As concentrações de BHBA no leite (mmol/L), para a exploração A, foram obtidas através da base de dados Bovinfor® onde está disponível o contraste leiteiro mensal na qual as medições são efetuadas com recurso ao analisador *MilkoScan*™ 7, e foi selecionada, para cada parto, apenas a primeira leitura respetiva quando essa era feita até aos 35DEL. As concentrações plasmáticas de BHBA (mmol/L), determinadas na exploração B com recurso a um medidor designado *FreeStyle Precision Neo*™, foram medidas no dia do controlo reprodutivo nas vacas pós-parto até 15 DEL (Suthar *et al.*, 2013).

Para os cálculos de ME, foram selecionados apenas as perdas de gestação respetivas à primeira IA e que ocorreram antes dos 61 dias de gestação (Santos *et al.*, 2010). Apenas para a exploração B foi calculada a taxa de refugo. A duração de PS só é possível determinar para os animais que se encontram na segunda ou mais lactações. Foi determinado a média dos dias de duração do PS para cada nível de concentração de BHBA no leite e no sangue.

3.2.2. Análise Estatística

A análise estatística envolveu medidas de estatística descritiva (frequências absolutas e relativas, médias e respetivos desvios-padrão) e estatística inferencial. O nível de significância para rejeitar a hipótese nula foi fixado em $P \leq .05$, no entanto também se comentaram as diferenças marginalmente significativas ($P \leq .10$). Utilizou-se o teste *Qui-Quadrado* para relacionar as variáveis de tipo qualitativo e o teste t de *Student* para amostras independentes

quando se comparou dois grupos em variáveis dependentes de tipo quantitativo. Aceitou-se a normalidade de distribuição dos valores nas amostras com dimensão superior a 30, de acordo com o teorema do limite central. O pressuposto de homogeneidade de variâncias foi analisado com o teste de *Levene*. Quando este pressuposto não se encontrava satisfeito foi utilizado o teste t de *Student* com a correção de Welch. Nos casos em que a normalidade de distribuição (analisada com o teste de *Shapiro-Wilk*) não se encontrava satisfeita utilizou-se o teste não paramétrico de *Mann-Whitney*. A análise estatística foi efetuada com o SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 25.0 para *Windows*. As tabelas referentes à análise estatística encontram-se no anexo II.

3.3. Resultados e Discussão

No total 1326 vacas leiteiras de duas explorações estavam, inicialmente, envolvidas no estudo ($\mu = 663$ vacas leiteiras). A tabela 1 resume os resultados gerais dos parâmetros avaliados nas duas explorações integrantes no estudo.

	Exploração A			Exploração B		
	Cetose Negativa	Cetose Positiva	<i>P</i>	Cetose Negativa	Cetose Positiva	<i>P</i>
IP-1ªIA (dias)	67.3 ± 16.2	68.9 ± 16.1	.538	67.3 ± 6.9	64.9 ± 16.1	.014*
TC à primeira IA (%)	32.7	32.6	1.00	45.6	41.8	.671
ME (%)	13.6	21.4	.426	8.8	21.7	.061***
Serviços por Conceção (nº)	2.5 ± 1.6	2.9 ± 1.9	.248	2.1 ± 1.4	2.3 ± 1.3	.435
IP-C (dias)	123.3 ± 66.7	136.4 ± 60.7	.210	107.2 ± 51.9	112.7 ± 49.6	.517
PS (dias)	52.8 ± 13.7	69 ± 32.6	.096***	72.0 ± 24.5	78.1 ± 29.7	.086***
Lactação (nº)	1.9 ± 1.2	2.2 ± 1.6	.240	2.1 ± 1.2	3.0 ± 1.38	.001**
Produção diária (L)	37.12 ± 8.6	32.6 ± 10.1	.001**	-	-	
Refugo (%)	-	-		24.9	51.6	.001**

Tabela 1 - Parâmetros reprodutivos e não reprodutivos nos dois grupos de vacas leiteiras, categorizados em função da concentração de ácido β -hidroxibutírico (BHBA) no leite, exploração A, e no sangue, na exploração B; Exploração A: Cetose negativa = [BHBA] < .10 mmol/L; Cetose positiva = [BHBA] \geq .10 mmol/L; Exploração B: Cetose negativa = [BHBA] < 1.2 mmol/L; Cetose positiva = [BHBA] \geq 1.2 mmol/L; TC à primeira IA: taxa de concepção à primeira inseminação artificial pós-parto; ME: mortalidade embrionária; IP-C: intervalo entre parto e a concepção; PS: período seco. Valores são a média \pm desvio padrão. Os valores com um asterisco sobrescrito tem diferença estatisticamente significativa na mesma exploração para os dois grupos (* $P \leq .05$; ** $P \leq .001$); ou diferença marginalmente significativa (***) $P \leq .10$).

Apesar de nos parâmetros tanto na exploração A como na B haver apenas um com diferença estatisticamente significativa para intervalos de confiança de 95% ($P \leq .05$) há algumas diferenças estatisticamente significativas para $P \leq .01$ e, verifica-se que excetuando a TC à primeira IA na exploração A e o IP-1ª IA na exploração B, de uma forma geral há sempre

tendência na melhoria dos parâmetros reprodutivos quando as vacas apresentam concentrações BHBA correspondentes a cetose negativa. O facto de a maioria dos parâmetros reprodutivos não terem diferença estatisticamente significativa poderá estar relacionado com a pequena amostragem de animais para o estudo (exploração A, $n=447$; exploração B, $n=879$) e, em alguns parâmetros não temos a inclusão de todos os animais tendo elevado nº de valores omissos da variável (*missings*) como podemos verificar nas tabelas do anexo II. Por outro lado, há autores que defendem que as concentrações sanguíneas de NEFA têm uma maior e mais forte associação com o desempenho reprodutivo do que as concentrações de BHBA em vacas leiteiras (Ospina *et al.*, 2010). No entanto podemos encontrar noutros estudos com validade que avaliam o grau de cetose e a sua relação com a performance reprodutiva a partir de medições de BHBA, como descrito anteriormente. É ainda de salientar que alguns autores defenderam que concentração de BHBA superior a 1.4 mmol/L dá uma melhor correlação para a cetose (Radostits, 2006; Divers & Peek, 2008; Fleming, 2009;), neste estudo foi utilizado um *cut-off* para BHBA plasmáticos ligeiramente mais baixo (1.2 mmol/L), tal como em outras publicações (Oetzel, 2004; Oetzel, 2007). É ainda de realçar que, regra geral, as concentrações de BHBA no leite são inferiores às do sangue e as concentrações de BHBA podem sofrer alterações, sobretudo em vacas que são alimentadas duas vezes ao dia na qual ocorre um pico da concentração cerca de 4h após a ingestão de alimento e maiores concentrações de manhã em comparação com a tarde, no entanto, em vacas que são alimentadas com *unifeed ad libitum* essa variação poderá ser mais pequena (Radostits, 2006). Neste estudo as colheitas foram efetuadas sem qualquer regra de tempo, sendo, portanto, uma variável na qual não é possível estimar precisamente de que forma poderá influenciar as concentrações de BHBA mensuradas.

3.3.1. Intervalo entre Parto e Primeira Inseminação Artificial

O IP-1ªIA não foi estatisticamente diferente nos dois grupos de vacas da exploração A (67.3 vs. 68.9 dias; $P = .538$; Figura 11). No entanto, para a exploração B o IP-1ªIA foi significativamente menor para as vacas com cetose quando comparado com as vacas sem cetose (64.9 vs. 67.3; $P < .05$; Figura 12). Este facto pode ser explicado por dois motivos:

- Na exploração B todas as vacas que se encontravam com níveis de BHBA ≥ 1.2 mmol/L eram sujeitas a um tratamento para cetose: Catosal® (25ml por via intravenosa, durante 1 ou 2 dias); Dexafort® (10 ml por via intramuscular, em dose única ou repetição após 48h); Propilenoglicol (uma saqueta por via oral, durante 3 a 5 dias), nas vacas com hipotonia ruminal ainda se adicionava Indigest ® injetável (25ml por via intramuscular, durante 1 a 2 dias) e nas vacas com BHBA ≥ 2.7 mmol/L era adicionado ao protocolo anterior Glucosoro Hipertónico a 30%® (500 a 1000ml, por via intravenosa lenta, durante 1 a 2 dias). Este tratamento permitia repor níveis de glicose e por isso ajudar a recuperar do BEN mais rapidamente do que nas vacas com BHBA < 1.2 mmol/L que não eram

submetidas a qualquer tratamento, pelo que dependiam totalmente da alimentação e síntese hepática para o suprimento de glicose. Isto fez com que, muito provavelmente, as vacas sem cetose demorassem mais tempo a atingir o equilíbrio energético adequado quando comparadas com as vacas com cetose pois estas foram suplementadas;

- Por outro lado, na exploração B, todas as vacas eram ressincronizadas para a primeira IA e para as vacas primíparas era efetuado um PVE maior do que para vacas múltiparas. Quando se comparou o IP-1ªIA das primíparas com o IP-1ªIA das múltiparas verificou-se que, em média, os IP-1ªIA das primíparas são maiores cerca de 10 dias (72.9 vs. 63.3 dias) e que do grupo das vacas com cetose apenas 9% eram primíparas sendo os restantes 91% vacas múltiparas. Ou seja, sendo as múltiparas as que atravessam menores PVE e tendo em conta a elevada percentagem destes animais no grupo das vacas com cetose, era previsível que o IP-1ªIA das vacas com cetose fosse menor quando comparado ao das vacas sem cetose. Neste último grupo, 57% das vacas eram múltiparas e 43% eram vacas primíparas.

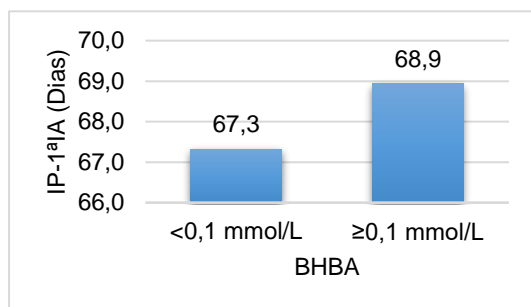


Figura 11 – Intervalo entre parto e primeira inseminação artificial (IP-1ªIA) na exploração A para as concentrações de ácido β -hidroxibutírico (BHBA) no leite.

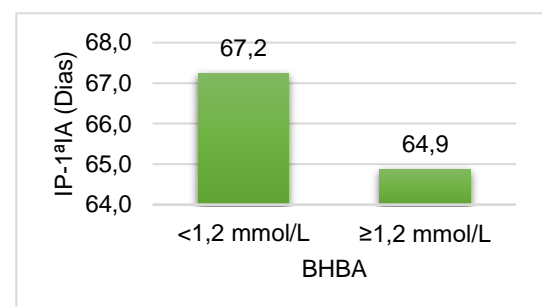


Figura 12 – Intervalo entre parto e primeira inseminação artificial (IP-1ªIA) na exploração B para as concentrações de ácido β -hidroxibutírico (BHBA) no sangue.

3.3.2. Taxa de Conceção à Primeira Inseminação Artificial

Na exploração A a proporção de vacas gestantes é igual nas vacas com cetose e nas vacas sem cetose (32.7% vs. 32.6%; Figura 13) ($P = 1.000$). Este resultado poderá ser devido ao pequeno nº de animais avaliados ou mesmo devido à falta de uniformidade quanto à primeira IA já que o IP-1ªIA foi o mesmo para vacas com e sem cetose e as IAs é que foram de cio natural, de prostaglandina ou programa de sincronização, ou seja, sem uniformidade.

Na exploração B há uma proporção numericamente mais elevada de vacas gestantes nas vacas sem cetose do que em vacas com cetose (45.6% vs. 41.8%), embora a diferença não seja estatisticamente significativa, $P = .671$ (Figura 14). Semelhante aos meus resultados, Ospina *et al.* (2010) mostraram que as vacas com concentrações plasmáticas de BHBA ≥ 1.0 mmol/L apresentaram menor TC após o PVE. Da mesma forma, Walsh *et al.* (2007) demonstraram que

maiores concentrações de BHBA durante a primeira ou segunda semana pós-parto foram associadas a uma diminuição da probabilidade de prenhez na primeira IA. Na exploração B há diferença estatisticamente significativa no IP-1ªIA ($P \leq .05$) que poderá influenciar as taxas de concepção já que este é maior nas vacas sem cetose o que poderá permitir uma melhor recuperação não só a nível reprodutivo, mas também no estado nutricional do animal e assim influenciar a TC.

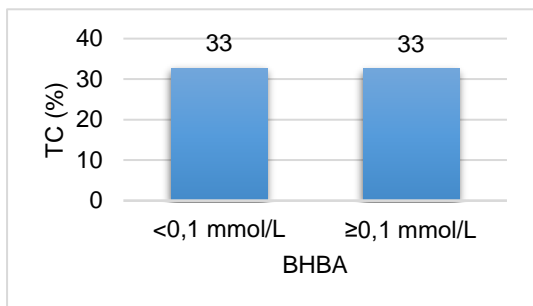


Figura 13 – Taxa de concepção (TC) à primeira inseminação artificial na exploração A para as concentrações de ácido β-hidroxibutírico (BHBA) no leite.

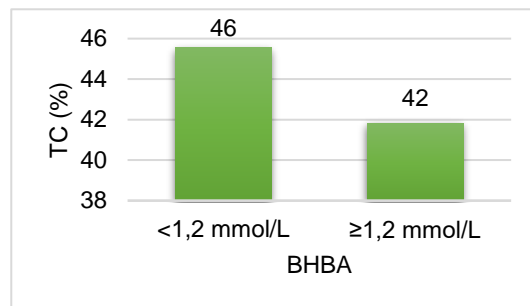


Figura 14 – Taxa de concepção (TC) à primeira inseminação artificial na exploração B para as concentrações de ácido β-hidroxibutírico (BHBA) no sangue.

3.3.3. Intervalo entre Parto e Concepção

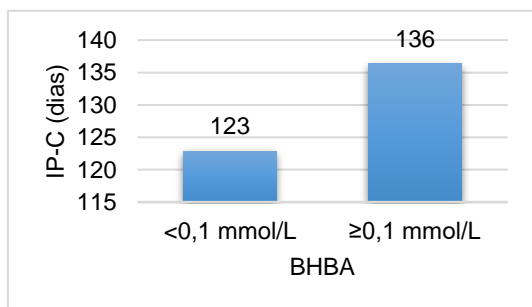


Figura 15 – Intervalo entre parto e concepção (IP-C) na exploração A para as concentrações de ácido β-hidroxibutírico (BHBA) no leite.

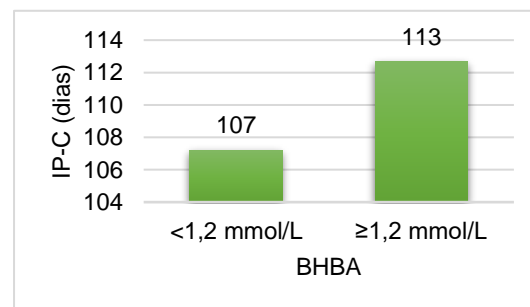


Figura 16 – Intervalo entre parto e concepção (IP-C) na exploração B para as concentrações de ácido β-hidroxibutírico (BHBA) no sangue.

Em relação aos dias em aberto (IP-C), também houve tendência a aumentarem quando os animais experimentavam BEN, contudo não se verificou diferença estatisticamente significativa nem para a exploração A ($P = .210$) nem para a exploração B ($P = .517$). Na exploração A as vacas com cetose experimentaram IP-C em média superiores aos dos animais sem cetose (136 vs. 123 dias) (Figura 15) e na exploração B verificou-se a mesma tendência (113 vs. 107 dias) (Figura 16). Apesar de não haver diferença estatisticamente significativa, a tendência vai de encontro aos descrito por Walsh *et al.* (2007). É de realçar que como descrito anteriormente, para a exploração B nas vacas sem cetose o IP-1ªIA foi maior. Isso poderá

explicar o facto de o IP-C não ter uma diferença maior já que o IP-1ªIA poderá influenciar o IP-C, sobretudo nas vacas que ficaram gestantes na primeira IA, fazendo com que o IP-C das vacas com cetose fosse menor e o IP-C das vacas sem cetose maior. Provavelmente se não houvesse diferença estatisticamente significativa no IP-1ªIA poderíamos ver uma maior diferença, e estatisticamente significativa, no IP-C dos dois grupos de vacas da exploração B.

3.3.4. Percentagem de Morte Embrionária

A percentagem de ME, apesar de não ter diferença estatisticamente significativa na exploração A ($P = .426$), é maior em animais com cetose positiva (21.4% vs. 13.6%) (Figura 17). Na exploração B a diferença é marginalmente significativa ($P \leq .10$) sendo que os animais com cetose apresentam maior proporção de ME (21.7% vs. 8.8%) (Figura 18). A tendência a haver mais ME nas vacas com maiores concentrações de BHBA vai de encontro ao facto de o BEN afetar a viabilidade do CL e, portanto, da sua produção de PG, essencial para a manutenção da gestação. Estes resultados coincidem com os relatados por Santos *et al.* (2010) apesar destes também não terem relatado diferença estatisticamente significativa para vacas com cetose clínica.

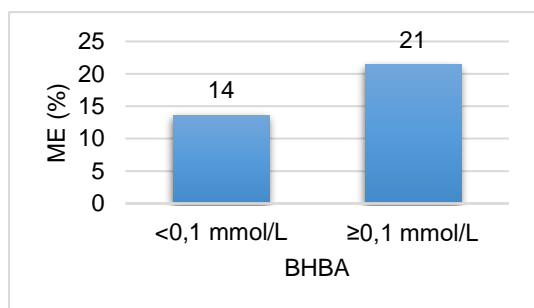


Figura 17 – Percentagem de Mortes Embrionárias (ME) para cada nível de ácido β -hidroxibutírico (BHBA) no leite na exploração A.

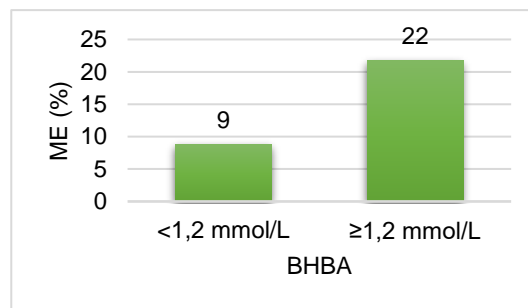


Figura 18 – Percentagem de Mortes Embrionárias (ME) para cada nível de ácido β -hidroxibutírico (BHBA) plasmático na exploração B.

3.3.5. Duração do Período Seco

Em relação ao PS, podemos verificar que tal como nos estudos de Weber *et al.* (2015) e Van Hoeij *et al.* (2017) também neste estudo os PS mais longos estão associados ao BEN, onde verificamos que vacas que atravessaram PS mais longos tiveram concentrações de BHBA mais elevadas quer no leite (exploração A) quer no sangue (exploração B), havendo uma diferença marginalmente significativa ($P \leq .10$) em ambas as explorações. Na exploração A as vacas que apresentaram cetose foram as que atravessaram PS mais longos (69.0 vs. 52.8 dias) tal como na exploração B (78.1 vs. 72.0 dias) (Figuras 19 e 20).

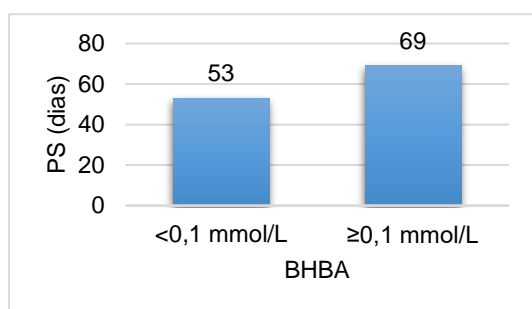


Figura 19 – Duração média do período seco (PS) para as concentrações no leite de ácido β -hidroxibutírico (BHBA) para a exploração A.

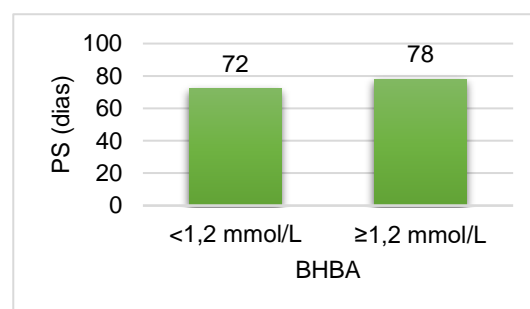


Figura 20 – Duração média do período seco (PS) para as concentrações plasmáticas de ácido β -hidroxibutírico (BHBA) para a exploração B.

3.3.6. Serviços por Conceção

O nº serviços por concepção foi ligeiramente maior em ambas as explorações para vacas com cetose, mas sem diferença estatisticamente significativa (Figuras 21 e 22). Na exploração A, as vacas com cetose tiveram maior nº de serviços por concepção do que as vacas que não tiveram cetose (2.86 vs. 2.53) ($P = .248$) e o mesmo se verificou na exploração B (2.27 vs. 2.09) ($P = .435$).

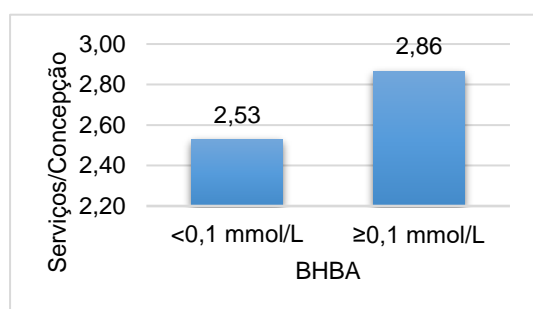


Figura 21 – Número de serviços por concepção para as diferentes concentrações de ácido β -hidroxibutírico (BHBA) no leite na exploração A.

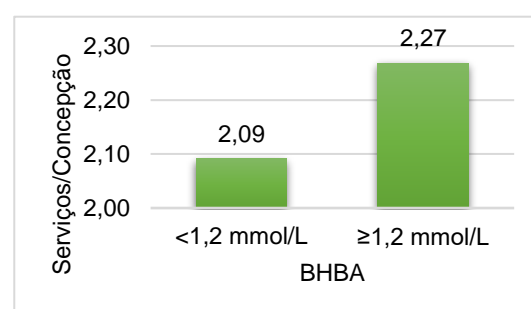


Figura 22 – Número de serviços por concepção para as diferentes concentrações plasmáticas de ácido β -hidroxibutírico (BHBA) na exploração B.

3.3.7. Lactação

Quanto à lactação na qual o animal se encontrava quando foram realizadas as colheitas, verifica-se que em ambas as explorações, as vacas que se encontravam em lactações avançadas têm mais tendência a atravessar BEN, ou pelo menos, BEN mais marcados já que apresentaram maiores concentrações de BHBA. Nas figuras 23 e 24 podemos ver a proporção de animais em cada lactação para cetose positiva e cetose negativa, onde verificamos que à medida que a lactação aumenta, também aumenta a proporção de animais com cetose positiva. No entanto, apenas na exploração B houve diferença estatisticamente significativa ($P \leq .001$). Na exploração A, as vacas diagnosticadas com cetose eram também as que se encontravam em média em lactações superiores (1.89 vs. 2.19) embora não haja diferença estatisticamente significativa ($P = .240$). Na exploração B as vacas com BHBA ≥ 1.2 mmol/L estavam também em

média em lactações superiores às das vacas com concentrações de BHBA ≤ 1.2 mmol/L (2.96 vs. 2.09). Esta tendência vai de encontro com o estudo de Vanholder *et al.* (2015) em que vacas multíparas tiveram maior risco de desenvolver cetose subclínica quando comparadas com as primíparas e, por outro lado, vacas com 3 ou mais partos, maior risco de desenvolver cetose tanto clínica como subclínica.

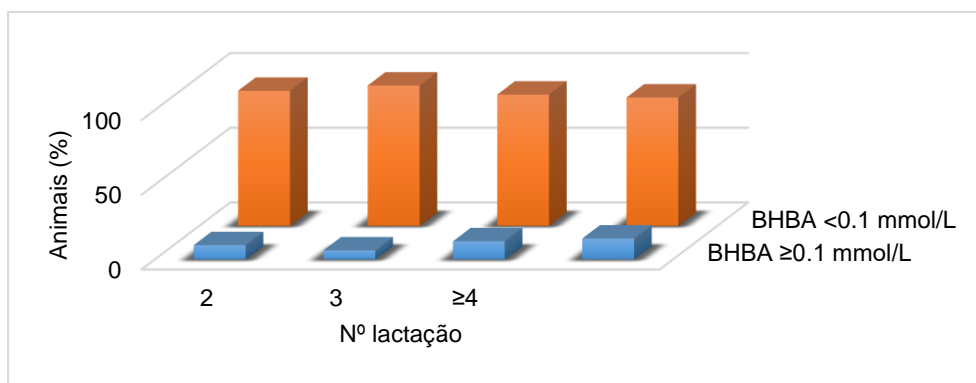


Figura 23 – Percentagem de animais por número (nº) de lactação em cada nível de ácido β -hidroxibutírico (BHBA) no leite da exploração A.

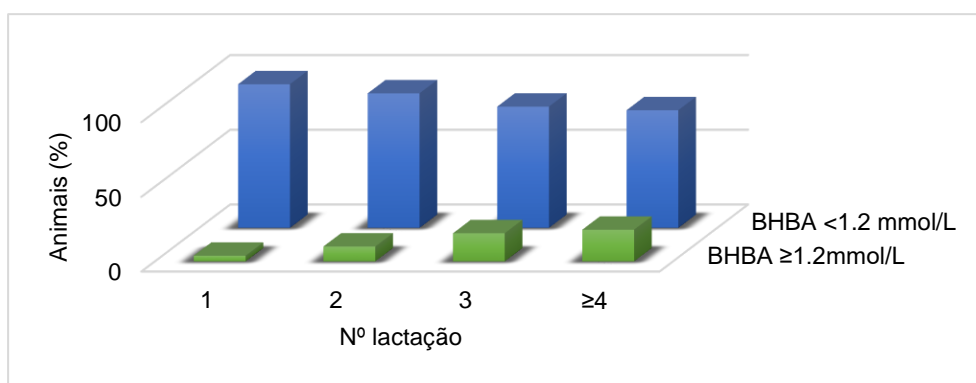


Figura 24 – Percentagem de animais por número (nº) de lactação em cada nível de ácido β -hidroxibutírico (BHBA) plasmático da exploração B.

3.3.8. Produção Leiteira Diária

Em relação à produção leiteira diária estudada na exploração A, há diferença marginalmente significativa ($P \leq .10$) e as vacas com cetose apresentam menor produção de leite (35.6 L vs. 37.1 L; Figura 25). Um dos sinais clínicos do BEN é a diminuição da produção de leite e o que se verifica neste estudo é que vacas com cetose positiva foram as que apresentaram menor produção de leite, o que também vai de encontro ao descrito: em vacas em BEN o potencial de produção de leite pode diminuir 1-9% (Radostits, 2006). No entanto, é importante lembrar que em geral as vacas que experimentam BEN são as vacas de alta produção e de acordo com Butler (2013) e Vanholder *et al.* (2015) as vacas que produzem mais leite por unidade de DMI em regra experimentam BEN mais graves já que mais do requerimento de energia para o leite é derivado de reservas corporais em vez de ingestão dietética e, portanto, os resultados

deste estudo vão em oposto ao descrito por estes autores. No entanto, provavelmente encontraríamos essa relação se as leituras de BHBA no leite fossem efetuadas mais cedo no pós-parto já que as vacas em cetose irão reduzir a produção de leite devido a uma redução da DMI, mas como os estímulos hormonais para a produção de leite conseguem superar os efeitos da diminuição da DMI, esta diminuição da produção não se segue automaticamente nem proporcionalmente logo no início da lactação (Radostits, 2006). Segundo Hillman & Gilbert (2008), a relação da produção com a fertilidade poderá estar relacionada com o BCS já que como é esperado que as vacas de alta produção atravessem um BEN no início da lactação é expectável que estes animais sofram perda de BCS que irá afetar negativamente a fertilidade.

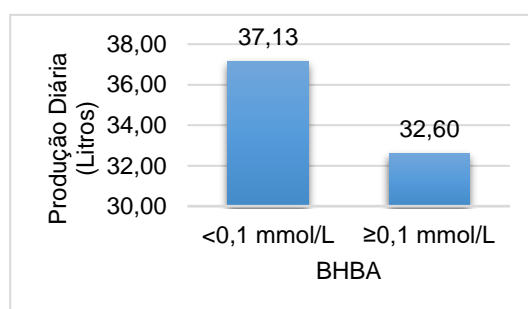


Figura 25 – Produção leiteira média por nível de ácido β -hidroxibutírico (BHBA) no leite na exploração A.

3.3.9. Percentagem de Refugo

O refugo estudado na exploração B foi mais elevado nas vacas com cetose (51.6% vs. 24.9%; Figura 26). Contudo, não podemos esquecer que as causas de refugo podem ser muito variadas. Como a cetose pode levar a patologias secundárias como as metrites, mastites e deslocamento de abomaso que podem levar ao refugo involuntário, a cetose poderá não ser assim a causa direta de refugo. Por outro lado, como o BEN parece levar à diminuição da performance reprodutiva, isso pode levar ao refugo involuntário por fraca fertilidade ou infertilidade. No entanto, podemos verificar que há diferença estatisticamente significativa ($P \leq .001$) e, portanto, prevenindo o BEN poderíamos reduzir o refugo. Perante o exposto seria interessante estudar as causas de refugo nesta exploração e determinar a correlação do refugo com a cetose.

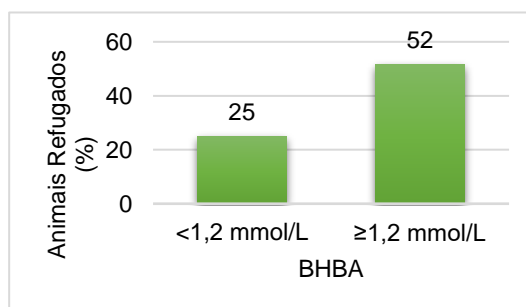


Figura 26 – Percentagem de animais refugados por nível de ácido β -hidroxibutírico (BHBA) plasmático na exploração B.

3.4. Conclusões

A alimentação, a nutrição e a saúde das vacas em lactação são os principais pontos que devemos apostar não só para melhorar a vida produtiva da vaca leiteira, mas também para melhorar o desempenho reprodutivo. A sua importância começa no período de transição e continuam até o início da lactação já que é nesta fase experimentam o BEN. O BEN durante o início da lactação é o principal fator nutricional para a baixa fertilidade em vacas leiteiras após o PVE e os efeitos do BEN podem ser múltiplos e relacionados.

A cetose e o BEN poderão ser as principais causas de perdas econômicas numa exploração não só devido à perda de produção, mas também pelo aumento da ocorrência de doenças peri-parto e pela diminuição da performance reprodutiva. A diminuição da TC à primeira IA, aumento do IP-C, aumento do nº de serviços por concepção, aumento da taxa de ME, menores produções de leite e aumento do refugo são algumas consequências. Assim, a medição de BHBA pode proporcionar aos produtores e médicos veterinários a oportunidade de melhorar o manejo das vacas leiteiras sobretudo no pós-parto. No entanto, a monitorização de BHBA plasmático poderá ser, do ponto de vista do produtor, não rentável ou inconveniente para uma análise de rotina e a determinação dos CC no leite poderá ser mais fácil e mais barata. Contudo, Enjalbert *et al.* (2001) estudaram a relação das concentrações de BHBA no sangue e no leite em vaca leiteiras para a deteção de cetose subclínica e foi demonstrado que a correlação é fraca (coeficiente de correlação = .66). Assim sendo, cabe ao médico veterinário alertar para a importância que a leitura do BHBA plasmático, e não apenas o BHBA no leite, poderá ter em algumas explorações e de que o sucesso a nível reprodutivo poderá ser baseado no grau do stress metabólico que as vacas experimentam durante o período de transição.

Em suma, o foco do médico veterinário e do produtor deverá ser a deteção precoce do BEN, sobretudo quando as vacas não apresentam sinais clínicos. Para tal as vacas devem ser examinadas regularmente durante o primeiro mês pós-parto e testadas para a concentração de BHBA plasmático, pelo menos uma vez, na primeira semana ou na segunda semana pós-parto o que permitirá uma deteção melhorada de patologias e distúrbios de produção e sucesso terapêutico. Para minimizar o BEN dever-se-á apostar na manutenção da ingestão de energia durante o período de pré-parto até o parto e aumentar a ingestão depois do parto para reduzir o BEN e os efeitos prejudiciais sobre a função ovárica e hepática permitindo assim uma saúde produtiva e eficiência reprodutiva melhorada. E, apesar da redução do BEN ser benéfica, pode-se tornar difícil de conseguir em vacas projetadas para alta produção de leite.

BIBLIOGRAFIA

1. Ambrose DJ (2015) "Postpartum anestrus and its management in dairy cattle" in Hopper RM (Ed) **Bovine Reproduction**, 1ª Ed, Wiley Blackwell, 459-464;
2. Berge ACB, Vertenten G (2014) "A field study to determine prevalence, dairy herd management systems and fresh cow clinical conditions associated with ketosis in western European dairy herds" **Journal Dairy Science** 97, 2145–2154;
3. Butler W (2003) "Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows" **Livestock Production Science** 83, 211–218;
4. Butler WR (2013) "Nutritional regulation of reproduction and fertility in dairy cattle" **Conference: Dairy Australia InCalf Reproduction Symposium**;
5. Cargile B, Tracy D (2015) "Interaction of nutrition and reproduction in the dairy cow" in Hopper RM (Ed.) **Bovine Reproduction**, 1ª Ed, Wiley Blackwell, 283-286;
6. Divers TJ, Peek SF (2008) "Metabolic diseases" **Rebhun's Diseases Of Dairy Cattle**, 2ª Ed, Saunders Elsevier, 590-596;
7. Duffield TF, Lissemore KD, McBride BW, Leslie KE (2009) "Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production" **Journal Dairy Science** 92, 571-580;
8. Enjalbert F, Nicot MC, Bayourthe C, Moncoulon R (2001) "Ketone bodies in milk and blood of dairy cows: Relationship between concentrations and utilization for detection of subclinical ketosis" **Journal Dairy Science** 83, 583-589;
9. Fleming SA (2009) "Bovine metabolic disorders" in Smith BP (Ed.) **Large Animal Internal Medicine**, 4ª Ed, Mosby, 1364-1369;
10. Herdt TH (2000) "Ruminant adaptation to negative energy balance: Influences on the etiology of ketosis and fatty liver" **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice** 16, 215-230;
11. Hillman R, Gilbert RO (2008) "Reproductive diseases" in Divers TJ, Peek SF (Ed) **Rebhun's Diseases Of Dairy Cattle**, 2ª Ed, Saunders Elsevier, 432-439;
12. LeBlanc S (2010) "Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition" **Journal of Reproduction and Development** 56, S29-S35;
13. Lucy MC, Staples CR, Thatcher WW, Erickson PS, Cleale RM, Firkins JL, Clark JH, Murphy MR, Brodie BO (1992) "Influence of diet composition, dry matter intake, milk production and energy balance on time of post-partum ovulation and fertility in dairy cows" **Animal Production** 54, 323-331;
14. McArt JAA, Nydam DV, Oetzel GR (2012) "Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle" **Journal Dairy Science** 95, 5056-5066;

15. Moyes KM, Larsen T, Friggens NC, Drackley, Ingvarsen KL (2009) "Identification of potential markers in blood for development of subclinical and clinical mastitis in dairy cattle at parturition and during early lactation" **Journal Dairy Science** 92, 5419-5428;
16. Nir MO (2003) "What are production diseases, and how do we manage them?" **Acta Veterinaria Scandinavica Supplementum** 98, 21-32;
17. O'Connor ML (2007), "Estrus detection" in Youngquist RS, Threlfael WR **Current Therapy in Large Animal Theriogenology**, 2^a Ed, Saunders Elsevier, 275;
18. Oetzel GR (2007) "Herd level ketosis: Diagnosis and risk factors" **40th Annual Conference: American Association of Bovine Practitioners**, 67-77;
19. Oetzel GR (2004) "Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease" **Veterinary Clinics: Food Animal Practice** 20, 651-674;
20. Orpin PG, Esslemont RJ (2010) "Culling and wastage in dairy herds: an update on incidence and economic impact in dairy herds in the UK", **Cattle Practice** 18, 163-172;
21. Ospina PA, Nydam DV, Stokol T, Overton TR (2010) "Associations of elevated nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States" **Journal Dairy Science** 93,1596-1603;
22. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD (2006) "Metabolic diseases" **Veterinary Medicine**, 10^a Ed, Saunders Elsevier, 1661-1667;
23. Santos JE, Bisinotto RS, Ribeiro ES, Lima FS, Greco LF, Staples CR, Thatcher WW (2010) "Applying nutrition and physiology to improve reproduction in dairy cattle" **Society of Reproduction and Fertility Supplement** 67, 387-403;
24. Santos JE, Rutigliano HM, Sá Filho MF (2009) "Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows" **Animal Reproduction Science** 110, 207-221;
25. Seifi HA, LeBlanc SJ, Leslie KE, Duffield TF (2011) "Metabolic predictors of post-partum disease and culling risk in dairy cattle" **Veterinary Journal** 188, 216–220;
26. Spain JN, Lucy MC, Hardin DK (2007) "Effects of nutrition on reproduction in dairy cattle" *in* Youngquist RS, Threlfael WR **Current Therapy in Large Animal Theriogenology**, 2^a Ed, Saunders Elsevier, 442-446;
27. Suthar VS, Canelas-Raposo J, Deniz A, Heuwieser W (2013) "Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows" **Journal Dairy Science** 96, 2925-2938;
28. van Hoeij RJ, Dijkstra J, Bruckmaier RM, Gross JJ, Lam TJGM, Remmelink GJ, Kemp B, van Knegsel ATM (2017) "The effect of dry period length and postpartum level of concentrate on milk

production, energy balance, and plasma metabolites of dairy cows across the dry period and in early lactation" **Journal Dairy Science** 100, 5863-5879;

29. Vanholder T, Papen J, Bemers R, Vertenten G, Berge ACB (2015) "Risk factors for subclinical and clinical ketosis and association with production parameters in dairy cows in the Netherlands" **Journal Dairy Science** 98, 880-888;

30. van Knegsel ATM, Remmelink GJ, Jorjong S, Fievez V, Kemp B (2014) "Effect of dry period length and dietary energy source on energy balance, milk yield, and milk composition of dairy cows" **Journal Dairy Science** 97, 1499-1512;

31. Walsh R, Leslie K, LeBlanc S, Kelton D, Walton J, Duffield T (2007) "The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows" **Journal Dairy Science** 90, 2788-2796;

32. Walsh RB, Kelton DF, Duffield TF, Leslie KE, Walton JS, LeBlanc SJ (2006) "Prevalence and risk factors for postpartum anovulatory condition in dairy cows" **Journal Dairy Science** 90, 315-324;

33. Weber C, Losand B, Tuchscherer A, Rehbock F, Blum E, Yang w, Bruckmaier RM, Sanftleben P, Hammon HM (2015) "Effects of dry period length on milk production, body condition, metabolites and hepatic glucose metabolism in dairy cows" **Journal Dairy Science** 98, 1772-1785.

ANEXOS

Anexo I – Casuística

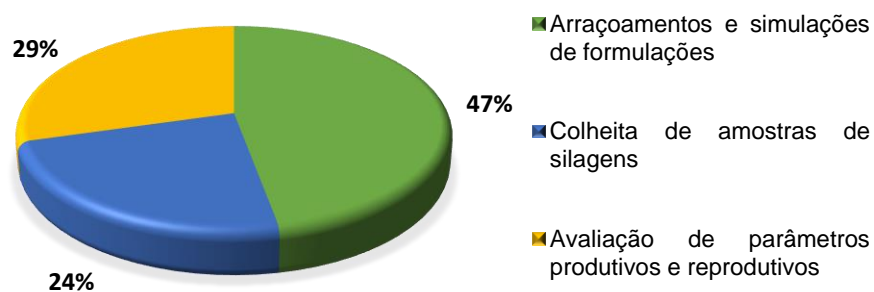


Figura 1 - Comparação das atividades desenvolvidas com o Eng. Nuno Guedes.

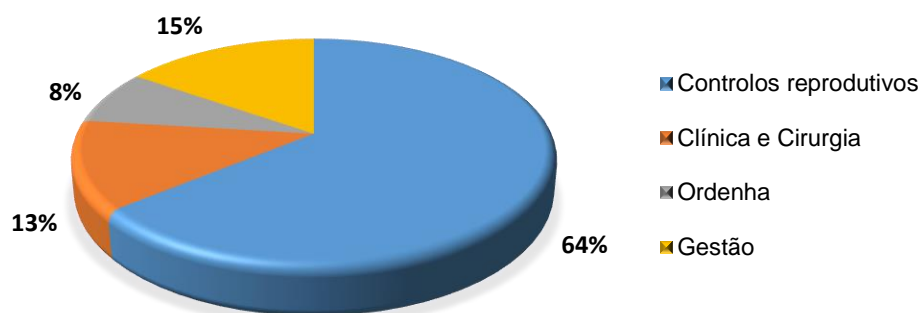


Figura 2 - Comparação das atividades desempenhadas com o SVA® (Serviços Veterinários Associados).

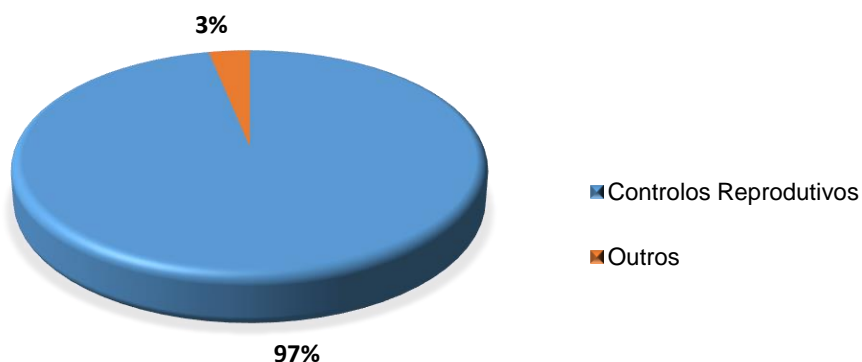


Figura 3 – Comparação das atividades desempenhadas com a Diessen®, Serviços Veterinários.

Anexo II – Análise Estatística

IP - 1ª IA

- Exploração A

	Casos					
	Válidos		Missing		Total	
	N	Percentagem	N	Percentagem	N	Percentagem
IP-1ªIA*DC	447	100.0%	0	0.0%	447	100.0%

	Cetose negativa		Cetose positiva			
N	404		37			
	M	DP	M	DP	t	Sig.
IP-1ªIA	67.3	16.2	68.9	16.1	- .62	.538

- Exploração B

	Casos					
	Válidos		Missing		Total	
	N	Percentagem	N	Percentagem	N	Percentagem
IP-1ªIA*DC	665	75.7%	214	24.3%	879	100.0%

	Cetose negativa		Cetose positiva			
N	609		56			
	M	DP	M	DP	t	Sig.
IP-1ªIA	67.3	6.9	64.9	7.7	2.45	.014*

* $p \leq 0.05$

Taxa de conceção à 1ª IA

- Exploração A

	Casos					
	Válidos		Missing		Total	
	N	Percentagem	N	Percentagem	N	Percentagem
DC*DG	447	100.0%	0	0.0%	447	100.0%

Diagnóstico de Gestação (DG)		Diagnóstico de Cetose (DC)		Total
		Cetose negativa	Cetose positiva	
Não Gestante	Freq.	272	29	301
	% DG	90.4%	9.6%	100.0%
	% DC	67.3%	67.4%	67.3%
Gestante	Freq.	132	14	146
	% DG	90.4%	9.6%	100.0%
	% DC	32.7%	32.6%	32.7%
Total	Freq.	404	43	447
	% DG	90.4%	9.6%	100.0%
	% DC	100,0%	100.0%	100.0%

- Exploração B

	Casos					
	Válidos		Missing		Total	
	N	Percentagem	N	Percentagem	N	Percentagem
DC*DG	630	71.7%	249	28.7%	879	100.0%

Diagnóstico de Gestação (DG)		Diagnóstico de Cetose (DC)		Total
		Cetose negativa	Cetose positiva	
Não Gestante	Freq.	313	32	345
	% DG	90.7%	9.3%	100.0%
	% DC	54.4%	58.2%	54.8%
Gestante	Freq.	262	23	285
	% DG	91.9%	8.1%	100.0%
	% DC	45.6%	41.8%	45.2%
Total	Freq.	575	55	630
	% DG	91.3%	8.7%	100.0%
	% DC	100.0%	100.0%	100.0%

Intervalo entre parto-conceção

- Exploração A

	Casos					
	Válidos		Missing		Total	
	N	Percentagem	N	Percentagem	N	Percentagem
DC*IP-C	336	75.2%	111	24.8%	447	100.0%

	Cetose negativa		Cetose positiva			
N	299		37			
	M	DP	M	DP	t	Sig.
IP-C	123.3	66.7	136.4	60.7	-1.257	.210

- Exploração B

	Casos					
	Válidos		Missing		Total	
	N	Percentagem	N	Percentagem	N	Percentagem
DC*IP-C	513	58.4%	366	41.6%	879	100.0%

	Cetose negativa		Cetose positiva			
N	472		41			
	M	DP	M	DP	t	Sig.
IP-C	107.2	51.9	112.7	49.6	-.649	.517

Percentagem de mortalidade embrionária

- Exploração A

	Casos					
	Válidos		Missing		Total	
	N	Percentagem	N	Percentagem	N	Percentagem
DME*DC	146	100.0%	0	0.0%	146	100.0%

Diagnóstico de Morte Embrionária (DME)		Diagnóstico de Cetose (DC)		Total
		Cetose negativa	Cetose positiva	
Sem morte embrionária à primeira inseminação	Freq.	114	11	125
	% DME	91.2%	8.8%	100.0%
	% DC	86.4%	78.6%	85.6%
Morte embrionária à primeira inseminação	Freq.	18	3	21
	% DME	85.7%	14.3%	100.0%
	% DC	13.6%	21.4%	14.4%
Total	Freq.	132	14	146
	% DME	90.4%	9.6%	100.0%
	% DC	100.0%	100.0%	100.0%

- Exploração B

	Casos					
	Válidos		Missing		Total	
	N	Percentagem	N	Percentagem	N	Percentagem
DME*DC	285	53.4%	249	46.6%	534	100.0%

Diagnóstico de Morte Embrionária (DME)		Diagnóstico de Cetose (DC)		Total
		Cetose negativa	Cetose positiva	
Sem morte embrionária à primeira inseminação	Freq.	239	18	257
	% DME	93.0%	7.0%	100.0%
	% DC	91.2%	78.3%	90.2%
Morte embrionária à primeira inseminação	Freq.	23	5	28
	% DME	82.1%	17.9%	100.0%
	% DC	8.8%	21.7%	9.8%
Total	Freq.	262	23	285
	% DME	91.9%	8.1%	100.0%
	% DC	100.0%	100.0%	100.0%

Duração do período seco

- Exploração A

	Casos					
	Válidos		Missing		Total	
	N	Percentagem	N	Percentagem	N	Percentagem
DPS*DC	215	99.5%	1	0.5%	216	100.0%

	Cetose negativa		Cetose positiva			
N	194		21			
	M	DP	M	DP	t	Sig.
DPS	52.8	13.7	69.0	32.6	-1.666	.096***

*** $p \leq 0.10$

- Exploração B

	Casos					
	Válidos		Missing		Total	
	N	Percentagem	N	Percentagem	N	Percentagem
DPS*DC	533	99.1%	5	0.9%	538	100.0%

	Cetose negativa		Cetose positiva			
N	453		80			
	M	DP	M	DP	t	Sig.
DPS	72	24.5	78.1	29.7	-1.735	.086***

*** $p \leq .10$

Serviços por Conceção

- Exploração A

	Casos					
	Válidos		Missing		Total	
	N	Percentagem	N	Percentagem	N	Percentagem
DC*NSC	336	75.2%	111	24.8%	447	100.0%

	Cetose negativa		Cetose positiva			
N	299		37			
	M	DP	M	DP	t	Sig.
NSC	2.5	1.6	2.9	1.9	-1.158	.248

- Exploração B

	Casos					
	Válidos		Missing		Total	
	N	Percentagem	N	Percentagem	N	Percentagem
DC*NSC	513	58.4%	366	41.6%	879	100.0%

	Cetose negativa		Cetose positiva			
N	472		41			
	M	DP	M	DP	t	Sig.
NSC	2.1	1.4	2.3	1.3	-.781	.435

Lactação

- Exploração A

	Casos					
	Válidos		Missing		Total	
	N	Percentagem	N	Percentagem	N	Percentagem
NL*DC	447	100.0%	0	0.0%	447	100.0%

	Cetose negativa		Cetose positiva			
N	404		43			
	M	DP	M	DP	t	Sig.
NL	1.9	1.2	2.2	1.6	-1.191	0.240

- Exploração B

	Casos					
	Válidos		Missing		Total	
	N	Percentagem	N	Percentagem	N	Percentagem
NL*DC	879	100.0%	0	0.0%	879	100.0%

	Cetose negativa		Cetose positiva			
N	784		95			
	M	DP	M	DP	T	Sig.
NSC	2.1	1.2	3.0	1.4	-6.365	.001**

* $p \leq .05$ ** $p \leq .001$ *** $p \leq .01$

Produção leiteira diária

- Exploração A

	Casos					
	Válidos		Missing		Total	
	N	Percentagem	N	Percentagem	N	Percentagem
PDL*DC	447	100.0%	0	0.0%	447	100.0%

	Cetose negativa		Cetose positiva			
N	404		43			
	M	DP	M	DP	t	Sig.
PDL	37.1	8.6	32.6	10.1	3.208	.001**

* $p \leq .05$ ** $p \leq .001$ *** $p \leq .01$

Percentagem de Refugo

- Exploração B

	Casos					
	Válidos		<i>Missing</i>		Total	
	N	Percentagem	N	Percentagem	N	Percentagem
DC*DR	879	100.0%	0	0.0%	879	100.0%

Diagnóstico de Refugo (DR)		Diagnóstico de Cetose (DC)		Total
		Cetose negativa	Cetose positiva	
Vacas não Refugadas	Freq.	589	46	635
	% DR	92.8%	7.2%	100.0%
	% DC	75.1%	48.4%	72.2%
Vacas Refugadas	Freq.	195	49	244
	% DR	79.9%	20.1%	100.0%
	% DC	24.9%	51.6%	27.8%
Total	Freq.	784	95	879
	% DR	89.2%	10.8%	100.0%
	% DC	100.0%	100.0%	100.0%